

DESARROLLO DE MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS EN PRESENCIA DE DISTINTAS CONCENTRACIONES DE FUNGICIDAS

P. ORTIZ MOLINUEVO, E.R. WRIGHT¹,
OLGA S. F. de DELFINO², P.E. GRIJALBA¹, MARIA V. LOPEZ²

Recibido: 05/10/94

Aceptado: 06/07/95

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo determinar el comportamiento de diferentes aislamientos de hongos antagonistas (*Trichoderma harzianum*, *T. koningii* y *Penicillium sp.*) en presencia de diferentes diluciones de los fungicidas Benomil, Captan, Carbendazim y P.C.N.B.

Se sembraron discos de agar papa glucosado con desarrollo miceliar de cada aislamiento en el centro de una caja de Petri que contenía medio de cultivo con un fungicida a una dilución dada. Se midió el crecimiento de los hongos para cada una de las diluciones, no habiendo diferencias significativas entre los testigos.

A las diluciones usadas no hubo desarrollo miceliar en presencia de Carbendazim y Benomil; en cambio en presencia de Captan y P.C.N.B. los hongos presentaron buen desarrollo en las concentraciones intermedias y bajas. Estos últimos fungicidas podrían aplicarse en forma conjunta con los hongos antagonistas probados y en dosis menores a las habituales.

Palabras clave: control biológico, antagonistas, fungicidas.

GROWTH OF ANTAGONISTIC FUNGI IN CULTURE MEDIA WITH DIFFERENT DILUTIONS OF FUNGICIDES

SUMMARY

The aim of the present paper is to determine the behavior of different isolates of antagonist fungi (*Trichoderma harzianum*, *T. koningii* y *Penicillium sp.*) in the presence of dilutions of the following fungicides: Benomil, Captan, Carbendazim and P.C.N.B.

Discs of potato dextrose agar colonized with mycelium of each isolate were placed in the center of a Petri plate which contained nutritive medium with the fungicides at a determined dilution. The growth of the antagonist fungi was measured in each of the dilutions of the fungicide. In the dilutions used, there was no fungi development in the presence of Carbendazim and Benomil. On the other hand, in the presence of Captan or P.C.N.B. the fungi developed well in low and intermediate concentrations. These last fungicides would be applied together with the tested antagonist fungi in minor doses than the frequently used.

Key words: biological control, antagonists, fungicides

INTRODUCCION

El manejo de microorganismos antagonistas, integrado a las prácticas tradicionales, constituye una interesante herramienta potencial para el con-

trol de enfermedades (Wright *et al.*, 1988). Para Baker y Cook (1974), el control biológico debería ser considerado como una parte del programa de control de una enfermedad, asumiendo un rol de

¹Cátedra de Fitopatología y ²Cátedra de Estadística, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453 (1417) Capital Federal.

importancia variable según la enfermedad considerada.

Una objeción principal a muchos de los controles químicos comúnmente en uso es su efecto indiscriminado sobre los restantes microorganismos, aparte del patógeno. En lugar de matar al patógeno, podría ser solamente necesario debilitarlo y hacerlo más vulnerable al antagonismo de la microflora asociada (Baker y Cook, 1974).

Rahe y Utkehede (1985) agregan que agentes biológicos y químicos pueden actuar como protectores directos de las plantas y la integración de ambos requiere mínima interferencia de uno con el otro.

Montealegre y Henríquez (1990) determinaron el efecto de 6 fungicidas efectivos *in-vitro* contra *Sclerotium rolfsii* sobre cepas de especies antagonistas del género *Trichoderma* con el fin de planear un control integrado de este patógeno.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar el comportamiento de distintos aislamientos de hongos antagonistas en presencia de distintas diluciones de los fungicidas Benomil, Captan, Carbendazim y P.C.N.B.

MATERIALES Y METODOS

Se partió de los aislamientos 6-4 (*Trichoderma harzianum*), 5-11 (*Penicillium sp.*) y Tk2 (*Trichoderma koningii*), los que mostraron ser eficientes antagonistas *in vitro* a *Sclerotinia*. (Goni *et al.*, 1989; Cortese *et al.*, 1992).

Los fungicidas utilizados fueron Captan 80 % p.a., Benomil 50% p.a. Carbendazim 50 % p.a. y P.C.N.B. 75 % p.a. en diluciones ($p/v=mg/ml$) 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 y 1/100000.

Cada aislamiento se sembró en cajas de Petri conteniendo 10 mm. de agar papa glucosado (APG) a pH 7. A los 7 días se extrajeron con un sacabocados discos de APG de 10 mm de diámetro con el desarrollo del antagonista. Los discos se sembraron en el centro de una caja de Petri de 8,2 cm de diámetro que contenía APG pH 7 con un fungicida a una dilución dada. Cada antagonista fue sembrado en medio de cultivo con cada fungicida a cada dilución. Se realizaron 7 repeticiones por tratamiento. Como testigos se sembraron discos de los hongos antagonistas sobre APG sin fungicida.

Las mediciones del crecimiento de los hongos antagonistas se hicieron diariamente desde el primer al séptimo día de la siembra. Se calcó sobre papel la

superficie cubierta por los hongos desde las bases de las cajas de Petri. Se recortó el papel correspondiente a cada observación y se pesó. A través de una constante, que relaciona el valor obtenido expresado en mg con la superficie del papel, se obtuvieron los datos de la superficie cubierta por el micelio de los hongos antagonistas, expresada en cm^2 .

Los datos fueron analizados a través de un estudio multifactorial, según factores: hongos, fungicida y dilución, para un momento dado del período considerado (tercer día). En este análisis el testigo fue considerado como nivel 0 del factor dosis. Se realizó además un análisis descriptivo del período total. Posteriormente se realizaron tests de comparaciones múltiples mediante la metodología de Tukey para obtener conclusiones sobre los fungicidas.

RESULTADOS

Se analizaron todos los factores conjuntamente (hongo, fungicida y dilución) en un momento dado de las observaciones a través del tiempo. Se eligió el tercer día de medición, ya que en él se observa desarrollo de los hongos antagonistas, en todos los tratamientos.

No fueron considerados en este análisis:

- 1) P.C.N.B. dilución 1/10 a 1/100, ya que no existe desarrollo del hongo Tk2 en esa dilución (ver Cuadro N° 7).
- 2) Benomil en todas las diluciones, ya que sólo desarrollaron en 1/100000 los aislamientos 6-4 y 5-11, no habiendo desarrollo de Tk2.
- 3) Carbendazim en todas las diluciones, ya que no hay desarrollo de los 3 hongos a las diluciones usadas.
- 4) Captan dilución 1/10 con los hongos 6-4, 5-11 y Tk2 y Captan dilución 1/10, 1/100, con Tk2, ya que no se observó desarrollo de los hongos a esas diluciones.

La superficie promedio de desarrollo de los antagonistas sin fungicida se observa en el Cuadro 1 y la Figura 1.

El comportamiento de los antagonistas 6-4, 5-11 y Tk2 en presencia del fungicida Captan se observan en los Cuadros 2, 3 y 4 y las Figuras 2, 3 y 4; y en presencia del fungicida P.C.N.B. en los Cuadros 5, 6 y 7 y las Figuras 5, 6 y 7.

El análisis conjunto de los efectos producidos por los 3 factores (hongo, fungicida, dosis) presen-

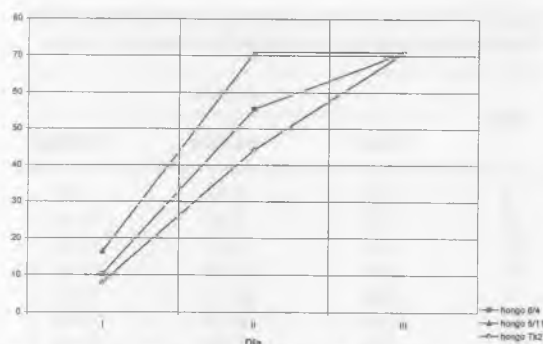


Fig. 1: Desarrollo promedio en cm^2 de tres hongos antagonistas sin fungicida

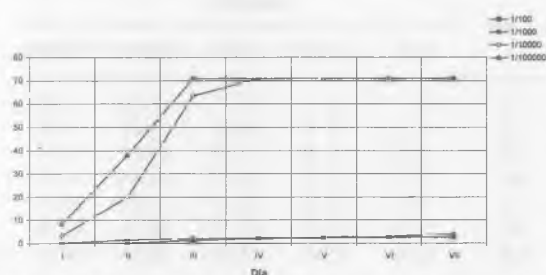


Fig. 2: Desarrollo promedio en cm^2 del hongo 6-4 (*Trichoderma harzianum*) a distintas diluciones de Captan

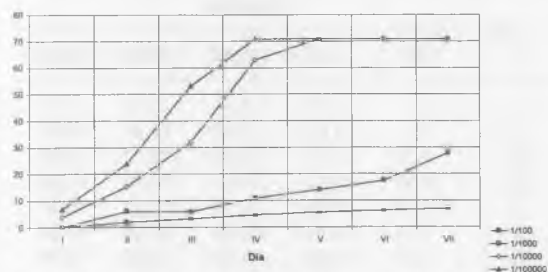


Fig. 3: Desarrollo promedio en cm^2 del hongo 5-11 (*Penicilium sp.*) a distintas diluciones de Captan

ta diferencias significativas para la interacción ($p < 0,05$).

Las superficies promedio para cada uno de los hongos a las diluciones 1/1000 y 1/100000 en el tercer día de desarrollo se presentan en el Cuadro

Cuadro N° 1: Desarrollo promedio en cm^2 de tres hongos antagonistas sin fungicida.

día	hongo		
	6/4	5/11	Tk2
I	10,20	16,30	7,92
II	55,42	70,88	44,15
III	70,88	70,88	70,88

Cuadro N° 2: Desarrollo promedio en cm^2 del hongo 6-4 (*Trichoderma harzianum*) a distintas diluciones de Captan.

día	dilución			
	1/100	1/1000	1/10000	1/100000
I	0	0	3,10	8,31
II	0	1,41	19,95	38,07
III	1,13	1,91	63,48	70,88
IV	1,95	2,22	70,88	70,88
V	2,22	2,46	70,88	70,88
VI	2,41	2,72	70,88	70,88
VII	2,62	3,82	70,88	70,88

Cuadro N° 3: Desarrollo promedio en cm^2 del hongo 5-11 (*Penicilium sp.*) a distintas diluciones de Captan.

día	dilución			
	1/100	1/1000	1/10000	1/100000
I	0	0	3,79	6,69
II	1,90	5,98	15,23	23,70
III	3,15	5,76	31,88	53,07
IV	4,53	10,67	63,00	70,88
V	5,45	13,93	70,88	70,88
VI	6,30	17,40	70,88	70,88
VII	6,93	27,71	70,88	70,88

8 y la Figura 8 cuando se considera al fungicida Captan; y en el Cuadro 9 y la Figura 9 cuando se considera al fungicida P.C.N.B.

En el Cuadro 8 se observa que los testigos (desarrollo de los hongos sin fungicida) no difieren entre sí. Cuando se les aplicó a los 3 hongos Captan a dilución 1/1000 se observaron diferencias significativas con los testigos, pero no existían diferencias significativas entre ellos.

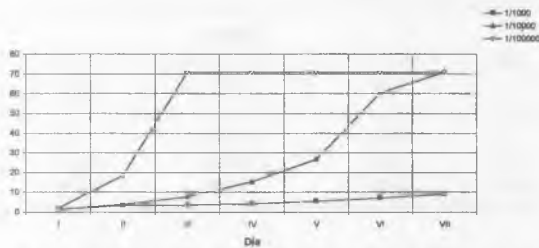


Fig. 4: Desarrollo promedio en cm² del hongo Tk2 (*Trichoderma koningii*) a distintas diluciones de Captan

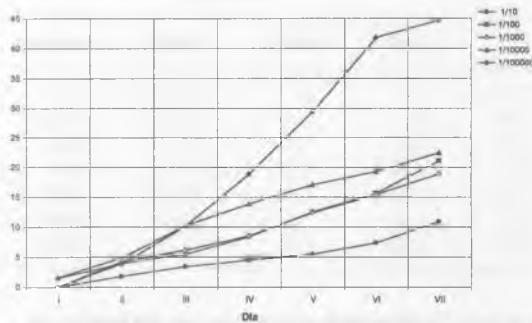


Fig. 5: Desarrollo promedio en cm² del hongo 6-4 (*Trichoderma harzianum*) a distintas diluciones de P.C.N.B.

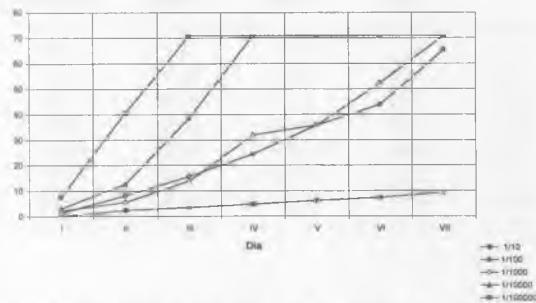


Fig. 6: Desarrollo promedio en cm² del hongo 5-11 (*Penicilium sp.*) a distintas diluciones de P.C.N.B.

A la dilución 1/10000 de Captan, el aislamiento 6-4 no se diferenció de los testigos y Tk2 no se diferenció en la superficie promedio de desarrollo alcanzada por los 3 hongos con la dilución 1/1000 de Captan, pero el hongo 5-11 se diferenció de los

Cuadro N° 4: Desarrollo promedio en cm² del hongo Tk2 (*Trichoderma koningii*) a distintas diluciones de Captan.

día	dilución		
	1/1000	1/10000	1/100000
I	1,40	1,23	1,87
II	3,15	3,60	18,25
III	3,54	7,57	70,88
IV	4,14	15,16	70,88
V	5,40	26,53	70,88
VI	7,04	60,27	70,88
VII	8,81	70,88	70,88

Cuadro N° 5: Desarrollo promedio en cm² del hongo 6-4 (*Trichoderma harzianum*) a distintas diluciones de P.C.N.B..

día	dilución				
	1/10	1/100	1/1000	1/10000	1/100000
I	0	0	0	1,55	1,51
II	1,72	3,92	4,16	4,89	3,88
III	3,40	5,46	6,13	10,22	10,17
IV	4,44	8,38	8,52	13,84	18,85
V	5,50	12,46	12,34	17,03	29,43
VI	7,39	15,62	15,37	19,26	41,76
VII	10,90	21,10	18,88	22,45	44,66

Cuadro N° 6: Desarrollo promedio en cm² del hongo 5-11 (*Penicilium sp.*) a distintas diluciones de P.C.N.B.

día	dilución				
	1/10	1/100	1/1000	1/10000	1/100000
I	0	1,38	2,14	3,14	7,42
II	2,3	8,01	5,53	12,46	40,52
III	3,32	15,57	13,80	38,52	70,88
IV	4,65	24,33	31,83	70,88	70,88
V	6,10	35,76	35,76	70,88	70,88
VI	7,19	43,80	52,28	70,88	70,88
VII	9,20	65,40	70,88	70,88	70,88

testigos y de los hongos con dilución Captan a 1/1000 y 1/10000.

A la dilución 1/100000 de Captan los hongos 6-4 y Tk2 no difieren significativamente de los tratamientos sin fungicidas y 5-11 difiere del resto de los tratamientos. Por lo tanto, a una concentración de Captan 1/100000, los hongos 6-4 y Tk2 son los que mejor desarrollan.

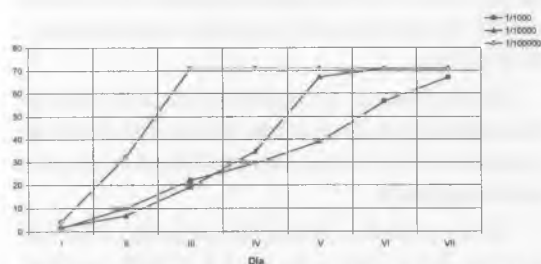


Fig. 7: Desarrollo promedio en cm^2 del hongo Tk2 (*Trichoderma koningii*) a distintas diluciones de P.C.N.B.

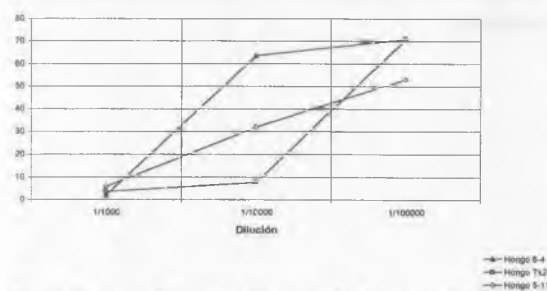


Fig. 8: Desarrollo promedio en cm^2 , al tercer día, de los hongos 6-4, Tk2 y 5-11 a distintas diluciones de Captan

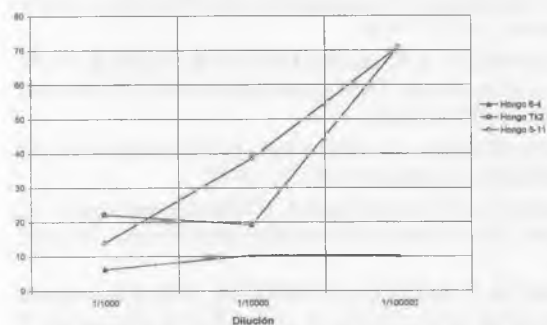


Fig. 9: Desarrollo promedio en cm^2 , al tercer día, de los hongos 6-4, Tk2 y 5-11 a distintas diluciones de P.C.N.B.

Cuando se analizó el comportamiento de los 3 hongos en presencia del fungicida P.C.N.B. (Cuadro N° 9) a dilución 1/1000, se observaron diferencias significativas entre los 3 hongos, siendo Tk2 el de mayor superficie promedio de desarrollo. A la dosis 1/10000, Tk2 y 5-11 difieren entre sí, pero

Cuadro N° 7: Desarrollo promedio en cm^2 del hongo Tk2 (*Trichoderma koningii*) a distintas diluciones de P.C.N.B.

día	dilución		
	1/1000	1/10000	1/100000
I	1,43	1,78	4,17
II	9,98	6,82	32,28
III	22,03	19,10	70,88
IV	29,44	34,68	70,88
V	39,00	67,06	70,88
VI	56,44	70,88	70,88
VII	66,86	70,88	70,88

Cuadro N° 8: Superficie promedio en cm^2 , al tercer día, de los hongos 6-4, Tk2 y 5-11 a distintas diluciones de Captan.

Tratamiento	Promedio	Significancia
Hongo 6-4 sin fungicida	70,88	*
Hongo Tk2 sin fungicida	70,88	*
Hongo 5-11 sin fungicida	70,88	*
Hongo 6-4 dil. 1/1000	1,91	*
Hongo Tk2 dil. 1/1000	3,54	*
Hongo 5-11 dil. 1/1000	5,75	*
Hongo 6-4 dil. 1/10000	63,48	*
Hongo Tk2 dil. 1/10000	7,57	*
Hongo 5-11 dil. 1/10000	31,88	*
Hongo 6-4 dil. 1/100000	70,88	*
Hongo Tk2 dil. 1/100000	70,88	*
Hongo 5-11 dil. 1/100000	53,07	*

* asteriscos alineados indican diferencias no significativas

Cuadro N° 9: Superficie promedio en cm^2 , al tercer día, de los hongos 6-4, Tk2 y 5-11 a distintas diluciones de P.C.N.B.

Tratamiento	Promedio	Significancia
Hongo 6-4 sin fungicida	70,88	*
Hongo Tk2 sin fungicida	70,88	*
Hongo 5-11 sin fungicida	70,88	*
Hongo 6-4 dil. 1/1000	5,98	*
Hongo Tk2 dil. 1/1000	22,03	*
Hongo 5-11 dil. 1/1000	13,80	*
Hongo 6-4 dil. 1/10000	10,22	*
Hongo Tk2 dil. 1/10000	19,10	*
Hongo 5-11 dil. 1/10000	38,52	*
Hongo 6-4 dil. 1/100000	10,17	*
Hongo Tk2 dil. 1/100000	70,88	*
Hongo 5-11 dil. 1/100000	70,88	*

* asteriscos alineados indican diferencias no significativas

Tk2 no difiere en su comportamiento con 6-4, teniendo 5-11 el mismo comportamiento que los antagonistas sin fungicidas y alcanzando un máximo desarrollo promedio. El aislamiento 6-4 tiene un comportamiento similar al 5-11 en dosis 1/1000 y al Tk2 en dosis 1/10000.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

A las diluciones usadas no hubo desarrollo de los hongos estudiados en presencia de Carbendazim y Benomil; en cambio en presencia de Captan y P.C.N.B. los hongos mostraron buen desarrollo miceliar. Con las diluciones 1/10 y 1/100 de estos últimos fungicidas no desarrolló el antagonista Tk2, a diferencia de los hongos 6-4 y 5-11, que desarrollaron en todas las diluciones.

Montealegre y Henríquez (1990) no encontra-

ron diferencias significativas en el desarrollo de una cepa de *Trichoderma harzianum* en presencia de las dosis efectivas para controlar *Sclerotium rolfsii*, de tolclofos metil y oxicarboxin con respecto al testigo.

Se continuarán los estudios para comprobar si los aislamientos que mostraron buen desarrollo en presencia de los fungicidas mantienen su capacidad antagonica.

Los resultados obtenidos permiten concluir que los fungicidas Captan y P.C.N.B. podrían aplicarse en forma conjunta con los antagonistas probados y en dosis menores a las habituales, siendo éste un posible avance hacia un control integrado de patógenos de suelo y portados por semillas.

BIBLIOGRAFIA

- BAKER, K. F. and R. J. COOK, 1974. Biological Control of Plant Pathogens, W. S. Freeman, San Francisco, 433 pp.
- CORTESE, P. E., M. E. GALLY y M. V. LOPEZ, 1992. Eficiencia *in vitro* de antagonistas de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 13 (1): 59-66.
- GOÑI, G. E., E. R. WRIGHT, R. L. ZAPATA, M. V. LOPEZ, O. S. F. de DELFINO y M. SENLLE, 1989. Selección *in vitro* de posibles antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum*. Trabajo presentado en las VII Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Universidad Nacional de Salta, 5 al 8 de junio.
- MONTEALEGRE, J. R. y J. L. HENRIQUEZ, 1990. Posibilidades de control integrado de *Sclerotium rolfsii* Sacc. mediante hongos del género *Trichoderma* y fungicidas. *Fitopatología* 25 (2): 68-74.
- RAHE, J. E. y R. S. UTKHEDE, 1985. Integrate Biological and Chemical Control of Sclerotial pathogens. En "Ecology and Management of Soilborne Plant Pathogens", The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, U.S.A., 433 pp.
- WRIGHT, E. R., R. L. ZAPATA, O. S. F. de DELFINO, M. V. LOPEZ y M. SENLLE, 1988. Eficiencia *in vitro* de antagonistas de *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 9 (3): 109-116.-